

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働省難治性疾患克服対策研究事業）
疫学Ⅱ班分担研究報告書

「全国国立病院機構腎疾患ネットワーク（腎ネット）における
日本人2型糖尿病性腎症の病態と疫学」

分担研究者	山田 研一	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
研究協力者	日暮 真由美	千葉大学医学部附属病院	内科
	八木 一夫	千葉大学大学院	医学研究院
	斉藤 康	千葉大学大学院	医学研究院
	涌井 佐和子	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
	松田 利恵子	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
	西村 元伸	国立病院機構千葉東病院	内科
	城 謙輔	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
	星山 佳治	昭和大学医学部	公衆衛生学教室
	島 正之	兵庫医科大学	公衆衛生学
	武 玉萍	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
	和野 千枝子	国立病院機構千葉東病院	臨床研究センター
	喜多 和子	千葉大学大学院	医学研究院
	鈴木 信夫	千葉大学大学院	医学研究院

HOSPnet DM 腎研究チーム

研究要旨

全国国立病院機構腎疾患ネットワーク活用による日本人2型糖尿病性顕性腎症の病態と疫学的検討を行なった。その結果、①比較的罹病期間の長い、日本人2型糖尿病性腎症の進展頻度は、15-20%/年であり、②CCケモカイン以外にもCXCケモカインもその進展に関与しており、3年間の前向き経過観察で特に高尿Mig排泄は、腎症進展の有意な危険因子となっていた。③Ang II受容体拮抗剤(ARB)投与は、細胞内NADPH oxidase mRNA 発現を抑制し、酸化ストレス抑制を通じ、抗蛋白尿効果に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

①日本人2型糖尿病性顕性腎症の進展頻度及び進展危険因子としてのケモカイン、特にCXCケモカインの関与を、経年的前向き観察により明らか

にする。

②2型糖尿病性顕性腎症の進展にアンジオテンシン(Ang)システムの亢進に伴う酸化ストレス亢進が関与し、Ang II受容体拮抗剤(ARB)投与が、その

進展を抑制するとの報告がある。組織 O_2 産生には、NADPH oxidase 活性が強く関与しており、その活性発現に主要コンポーネントである「p22 phox」及び「gp91 phox (NOX4)」の発現が重要であるとされている。そこで、日本人 2 型糖尿病性顕性腎症への ARB 長期投与による、末梢リンパ球 NADPH oxidase p22 phox 及び gp91 phox mRNA の発現の変化を、健常人との比較も含めて検討し、進展への細胞内 NADPH oxidase の関与と意義について検討した。

B. 研究方法

①日本人 2 型糖尿病性腎症 (65 才未満の 2 型糖尿病、8 年以上の糖尿病罹病歴、S-Cr<2.0mg/dl、かつ糖尿病性網膜症を有す) (218 症例) を 1999 年 3 月より 1 年間登録し、前向き観察研究とした。登録症例の正常アルブミン尿群 (n=86)、微量アルブミン尿群 (n=63)、顕性腎症群 (n=69) 間で、年齢、性、糖尿病罹病歴、糖尿病治療内容に有意差を認めなかった。尿アルブミン排泄以外に尿 IV 型コラーゲン排泄 (高尿 IV 型コラーゲン排泄群 >7.5 μ g/gCr) もその指標とした。また、CXC ケモカインとして IL-8、Mig (IFN γ 誘導モノカイン)、ENA-78 (epithelial derived neutrophil attractant-78) 及びそれらの receptor (CXCR) を尿及び腎生検標本にて検討した。

②日本人 2 型糖尿病性顕性腎症 (17 名) に ARB としてカンデサルタン 8mg/日を 6 ヶ月間以上投与し、その前後で

の末梢血リンパ球内 NADPH oxidase p22 phox 及び gp91 phox mRNA 発現を real time RT-PCR を用いて定量化し、比較検討した。

(研究の倫理面への配慮)

上記本研究は、各施設の倫理委員会承認と文書による同意を得た上で行われた。

C. 結果

①糖尿病性腎症の S-Cr \geq 2.0mg/dl への進展頻度は尿アルブミン排泄及び尿 IV 型コラーゲン排泄を指標にしても 15-20%/年であった。

②糖尿病性腎症腎生検標本では、CXC ケモカイン及び CXCRs の発現が亢進していた。

③高尿 Mig 排泄群 (\geq 70ng/gCr) は、3 年の経過観察の結果、糖尿病性顕性腎症進展の有意なリスク因子 (Kaplan-Meier 検定、 $p<0.001$) であった。

④Fig. 1 に示すように、糖尿病性顕性腎症へのカンデサルタン 8mg/日 \times 6 ヶ月間の投与にて、尿蛋白や尿アルブミン排泄の有意の減少を認めた。一方、HbA_{1c} や血圧値には有意の変動を認めなかった (プロトコール上、他の降圧剤等で、血圧を 140/90mmHg 前後にコントロールした後に ARB 投与を行なった)。

糖尿病性顕性腎症患者での末梢リンパ球 NADPH oxidase p22 phox 及び gp91 phox mRNA 発現は、正常人に比べ高い傾向にあるも有意差を認めなかったが、カンデサルタン投与で、両

者の mRNA 発現とも、有意に低下した (Fig. 2)。

D. 考察・結論

①比較的罹病期間の長い、日本人 2 型糖尿病性腎症の進展頻度は 15-20%/年と高率であった。これは 2 つの指標 (尿アルブミン排泄及び尿 IV 型コラーゲン排泄) を用いてもほぼ同程度であり、両指標の有用性を認めるとともに、進展抑制対策の重要性が示唆された。

②糖尿病性顕性腎症の進展に CC ケモカインのみならず、CXC ケモカインが関与しており、特に高 Mig 排泄は腎症の有意な進展危険因子であった。

③糖尿病性顕性腎症の蛋白尿排泄変動と末梢リンパ球 NADPH oxidase 活性発現に相関性がある可能性を認めた。ARB 投与によるその活性発現の低下 (直接的か間接的かは不明であるが) が、蛋白尿排泄減少に一部関与している可能性が示唆された。ARB 投与効果の一部を説明することが出来る可能性があり、今後の検討課題となった。

E. 健康危険情報

なし

F. 知的所有権の出現登録状況

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Y.Iino, M.Hayashi, T.Kawamura,

T.Shiigai, Y.Tomino, K.Yamada, T.Kitajima, T.Ideura, A.Koyama, T.Sugisaki, H.Suzuki, S.Umehara, Y.Kawaguchi, S.Uchida, M.Kuwahara, T.Yamazaki: Renoprotective Effect of Losartan in Comparison to Amlodipine in Patients with Chronic Kidney Disease and Hypertension-a Report of the Japanese Losartan Therapy Intended For the Global Renal Protection in Hypertensive Patients (JLIGHT) Study. *Hypertens Res* (2004); 27:21-30

2) Y.Yamaguchi, K.Yamada, T.Suzuki, Y.Wu, K.Kita, S.Takahashi, M.Ichinose, N.Suzuki: Induction of uPA release in human peripheral blood lymphocytes by [deamino-Cys¹, D-Arg⁸] - vasopressin (dDAVA). *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2004); 287:E970-E976

3) T.Terawaki, K.Yoshimura, T.Hasegawa, Y.Matsuyama, T.Negawa, K.Yamada, M.Matsushima, M.Nakayama: Oxidative stress is enhanced in correlation with renal Dysfunction: Examination with the redox state of albumin. *Kidney International* (2004); 66:1988-1993

2. 学会発表

1) 糖尿病性腎症の治療—糖尿病専門医と腎臓病専門医との連携—：山田研一. 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会 2004 年 5 月 東京

2) 糖尿病性腎症における家庭血圧の測定意義と、candesartan (CA) の降圧効果に対する遺伝因子の影響に関する研究：西村元伸、山田研一、その他. 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会 2004 年 5 月 東京

- 3) 糖尿病性腎症進展に対する CXC ケモカインの関与の可能性と臨床的意義：日暮真由美、山田研一、その他。第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会 2004 年 5 月 東京
- 4) 1 型糖尿病膵島移植登録患者の背景および膵島移植の意義：小出信澄、山田研一、その他。第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会 2004 年 5 月 東京
- 5) 腎疾患ネットワークデータベースによる疫学研究：山田研一。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 6) 腎移植後糖尿病 (PTDM) 発症の危険因子と糖負荷試験の有用性の検討：西村元伸、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 7) 糖尿病性腎症患者の食事摂取と疾患関連因子の解析：松田利恵子、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 8) ヒト細胞の NADPH oxidase mRNA 発現とアンジオテンシン II (Ang II) による影響の検討：武玉萍、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 9) ヒト培養細胞の NADPH oxidase に対する糖濃度の影響：武玉萍、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 10) 糖尿病性腎症進展に対する CXC ケモカインの関与の可能性と臨床的意義：日暮真由美、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 11) 肥満関連因子の糖尿病性腎症 (DN) の進展に対する影響に関する検討：小出信澄、山田研一、その他。第 47 回日本腎臓学会学術総会 2004 年 5 月 栃木
- 12) ヒト末梢リンパ球から、AVP・V₂ 受容体依存性に放出するプロテアーゼの同定と腎移植患者拒絶反応時の末梢リンパ球同プロテアーゼの意義と病態への関与の可能性について：山田研一、山口喜孝、武玉萍、鈴木敏和、喜多和子、高橋俊二、坂本薫、田辺一成、一瀬正治、鈴木信夫。第 5 回腎不全病態治療研究会 2004 年 11 月 東京
- 13) 糖尿病性腎症に対する食事蛋白制限に伴う各栄養素の変化と臨床パラメーターとの関連性：山田研一、島正之、松田利恵子、多田純子、宮内真弓、古家大祐、永妻光義、加藤由佳、勝又千春、羽田勝計、吉川隆一。第 16 回日本糖尿病性腎症研究会 2004 年 12 月 東京
- 14) 糖尿病性早期腎症に対する candesartan (CA) の効果に影響する因子の検討：西村元伸、山田研一、その他。第 16 回日本糖尿病性腎症研究会 2004 年 12 月 東京

Fig 1. Effect of candesartan treatment on physiological and biochemical parameters in patients with diabetic nephropathy

	Candesartan (8mg/day)	
	Before treatment	after treatment for 6 months
n=17		
Urinary protein (mg/gCr)	1689.5 ± 1881.5	1114.0 ± 1158.8*
Urinary albumin (mg/gCr)	1274.9 ± 1420.2	858.9 ± 883.1*
HbA _{1c} (%)	7.3 ± 0.7	7.3 ± 1.2
Morning home blood pressure (mmHg)	140 ± 6 / 79 ± 9	138 ± 13 / 77 ± 13
Evening home blood pressure (mmHg)	132 ± 9 / 67 ± 7	134 ± 9 / 70 ± 9

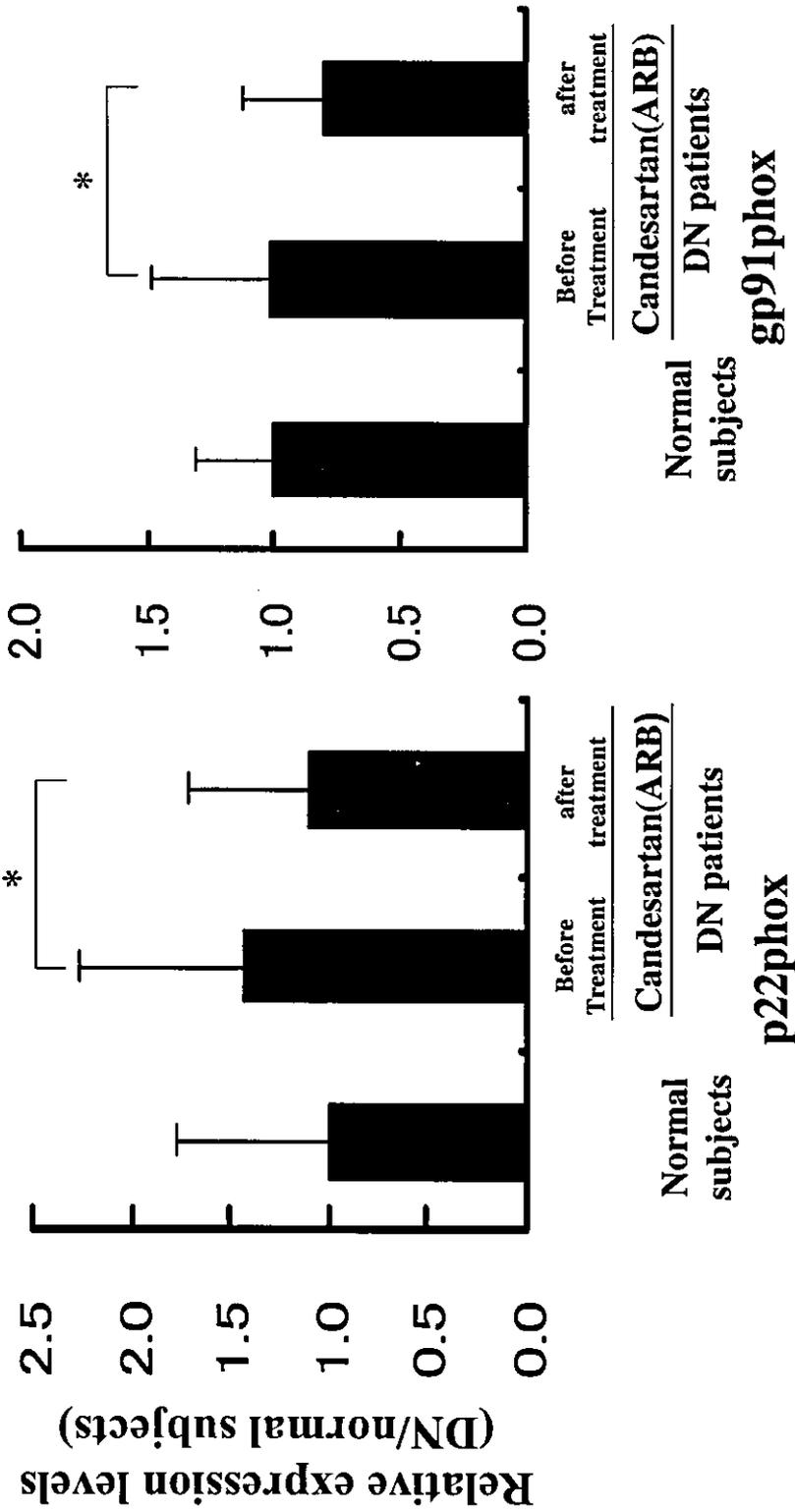
*p<0.05 vs the before treatment

Date are presented as means ± SD

Urinary protein and albumin excretion after treatment with candesartan decreased significantly without change in HbA_{1c} and blood pressure in patients with diabetic nephropathy.

Fig 2.

Changes in NADPH oxidase mRNA expression of lymphocytes of diabetic nephropathy patients with candesartan treatment



Before the treatment levels of NADPH oxidase mRNA (p22phox and gp91phox) tended to be higher, but not significantly, in patients with diabetic nephropathy than in normal subjects. However, the expression levels of NADPH oxidase mRNA decreased significantly after 6months treatment with candesartan in patients with diabetic nephropathy.

(* $p < 0.05$, normal subject: $n = 20$, patients with diabetic nephropathy: $n = 17$)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「アクアポリン11ノックアウトマウスの多嚢胞腎形成機構の解明」

研究協力者 石橋 賢一

国立病院機構千葉東病院・臨床研究センター・分子生物研究部 部長

研究要旨

多嚢胞腎の新しいモデルであるアクアポリン11ノックアウトマウスの嚢胞形成メカニズム解明の研究をおこなった。前駆病変として近位尿細管の空胞変性がみられるのが特徴的であり、空胞の実体と形成メカニズム解明をおこなった。小胞体の拡張によることがあきらかになり、またpHなどの環境異常による小胞体ストレスが背景にあることが示唆された。

A. 研究目的

多嚢胞腎発症の機構は不明である。今回われわれはアクアポリン11(AQP11)ノックアウトマウスを作成したところ思いがけず多嚢胞腎による腎不全で致死的であることがあきらかになった。このモデルでの多嚢胞腎発症の機構をあきらかにすることでヒト多嚢胞腎発症の機構の解明の端緒を得るのが目的である。

B. 研究方法

このモデルでは前駆病変として近位尿細管の空胞変性がみられるのが特徴的であり、まず空胞の実体と形成メカニズム解明をおこなう。電顕と免疫組織染色で空胞の実体をあきらかにする。AQP11の局在との関係を免疫組織染色であきらかにする。細胞内オルガネラの機能異常がないかどうか

を近位尿細管細胞の初代培養でノックアウトマウスとワイルドマウスで比較することで検証する。

（研究の倫理面への配慮）
動物実験なので該当しない。

C. 結果

AQP11は精巣に最も多く、次いで胸腺、肝臓、腎臓小腸に、また低レベルの発現ほとんどの臓器にみられる。腎臓では近位尿細管の細胞内に発現している。GFP-AQP11をHEK細胞に発現させると小胞体に主として局在する。腎嚢胞は生後20日すぎから見られるがそれまでは肝臓や小腸でみられたような空胞変性が近位尿細管全体に見られる。この変化は出生時から認められ近位尿細管の分化に従って増加してくる。電顕で空胞を形成しているのが小胞体であることがわかった。脂

肪、糖、蛋白の蓄積はみられなかった。近位尿細管の初代培養でエンドソームの pH と Cl 濃度を比較すると KO マウスでは 37°C に温めて酸性化する速度の低下がみられたが pH の低下に呼応する Cl の上昇はワイルドと差はみられなかった。

D. 考察

近位尿細管の初代培養では空胞はみられないがエンドソームの酸性化障害がみられることから細胞内オルガネラの機能異常が背景にあることが想像される。チャネルやポンプの異常で小胞体拡張がおきるので AQP11 が直接あるいは間接に小胞体の環境を制御しているとすると、その破綻で小胞体拡張がおきうる。一方近位尿細管障害から嚢胞形成に至る過程は障害をうけた近位尿細管の再生異常が考えられる。ヒト類似疾患としては近位尿細管形成不全によるネフロン癆が考えられ、器官形成に AQP が関与することから新しい嚢胞形成の機構が想定される。

E. 結論

多嚢胞腎の新しいモデルであるアクアポリン 11 ノックアウトマウスの嚢胞形成の前駆病変として近位尿細管の空胞変性について：小胞体の拡張によること；近位尿細管の初代培養でエンドソームの酸性化障害がみられることがあきらかになった。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 知的所有権の出現登録状況 なし。

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saito K, Kageyama Y, Okada Y, Kawakami S, Kihara K, Ishibashi K, Sasaki S. Localization of aquaporin-7 in human testis and ejaculated sperm: possible involvement in maintenance of sperm quality. *J. Urol.* 172: 2073-2076, 2004
- 2) Morishita Y, Sakube Y, Sasaki S, Ishibashi K. Aquaporin superfamily (superaquaporins): Expansion of aquaporins restricted to multicellular organisms. *J Pharmacol. Sci.* 96: 276-279, 2004
- 3) Ishibashi K, Ishikawa Y. Molecular Mechanisms and Drug Development in Aquaporin Water Channel Diseases: Preface. *J. Pharmacol. Sci.* 96: 247-248, 2004
- 4) Takeda S, Takahashi M, Mizukami H, Kobayashi E, Takeuchi K, Hakamata Y, Kaneko T, Yamamoto H, Ito C, Ozawa K, Ishibashi K, Matsuzaki T, Takata K, Asano Y, Kusano E. Successful gene transfer using adeno-associated virus vectors into the kidney: comparison among adeno-associated virus serotype 1-5 vectors in vitro and in vivo. *Nephron Exp Nephrol.* 96:e119-26, 2004
- 5) Nakakoshi M, Morishita Y, Usui K, Ohtsuki M, Ishibashi K. Identification of a keratinocarcinoma cell line expressing AQP3. *Biology of the Cell.* In press.
- 6) Li H, Kamiie J, Morishita Y, Yoshida Y, Yaoita E, Ishibashi K, Yamamoto T. Expression

and Localization of Two Isoforms of AQP10 in Human Small Intestine. *Biology of the Cell*. In press.

2. 学会発表

1) Morishita Y, Ishibashi K, Ando Y, Muto S, Sasaki S, Kusano E. Neonatal mortality of aquaporin 11 (AQP11) knockout mice: from proximal tubular vacuoles to polycystic kidneys. 47 回日本腎臓学会学術総会、2004. 5. 27 宇都宮

2) Ishibashi K, Morishita Y, Sakube Y, Sasaki S. Aquaporin superfamily (Superaquaporins) 77 回日本薬理学会年次総会シンポジウム Molecular mechanisms and Drug Development in Aquaporin Water Channel Diseases. 2004. 3.10. 大阪

3) Morishita Y, Hara M, Matsuki A, Matsuzaki T, Andoo A, Shimono M, Ikeda M, Yamamoto T, Verkman A, Kusano E, Sasaki S, Ishibashi K. Disruption of aquaporin 11 (AQP11) produces vacuolization in proximal tubules with impaired endosomal acidification. Annual Meeting of American Society of Nephrology, 2004. St. Louis

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「FSGS（巣状糸球体硬化症）のわが国におけるデータベース構築と
その活用による疫学調査研究」

研究協力者 菅原 照
国立病院機構京都医療センター腎臓内科

研究要旨

FSGS（巣状糸球体硬化症）は難治性ネフローゼ症候群を呈する代表的な糸球体疾患であるが、わが国におけるその実態・成因については詳細不明である。国立病院機構・関連病院における過去3年の腎生検400症例につき検討し、ネフローゼ症候群の7.9%（228例中18例）にFSGSを認めた。そのうち肥満症例において（10例）非肥満症例において（8例）に認めた。FSGS所見を伴う肥満関連腎症は腎生検組織上FSGSを認めない肥満関連腎症に比して予後は不良であり、特発性のFSGSはさらに治療抵抗性で予後不良のことが多い、国立病院機構腎ネットワークを活用しデータ集積検討することによりわが国のFSGSの実態を把握し治療に関する検討を進めることにより適切な治療指針の作成に貢献するものと考える。

A. 研究目的

巣状糸球体硬化症 FSGS は難治性ネフローゼ症候群を呈する代表的な糸球体疾患でわが国における一次性ネフローゼ症候群の 10 数%を占め、難治性の出現率は約 1/3 と最も多いといわれている。わが国におけるその実態、成因に関しては詳細不明で、診断の根拠となる病理組織学的所見も多岐にわたる。また、わが国において肥満患者に伴う FSGS の報告が増え、一時的二次性の FSGS が近年増加しつつある。国立病院機構京都医療センター腎ネットにおいてその実態を把握す

べくデータベースを構築しわが国の FSGS の実態、発症予防、進展抑制、適切な治療選択に関して検討する。

B. 研究方法

国立病院機構京都医療センター・関連病院における過去 3 年間の腎生検症例（400 症例）を対象とし、腎生検組織について複数の病理医・日本腎臓学会専門医により検討し FSGS と診断されるものを登録。肥満との関連につき検討。

（研究の倫理面への配慮）

医学的研究及び医療行為の対象と

なる個人の人権擁護：対象個人のプライバシーの保護、得られる研究成果の医学的貢献度などについて十分に説明し、同意を得ること、データの台帳には実名を記さずコード化することなど国立病院機構の倫理委員会にて承認を得た。

C. 結果

国立病院機構京都医療センター・関連病院における過去 3 年間の腎生検 400 症例（肥満 68 例非肥満 342 例）を検討した。ネフローゼ症候群を呈する症例のうち FSGS 所見を認めるものは 7.9%（228 例中 18 例）で、BMI25 未満の非肥満症例において 8 例、BMI25 以上の肥満症例において 10 例に FSGS 所見を認めた。非肥満症例においては種々の治療（ステロイド、免疫抑制、抗凝固療法、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、受容体拮抗薬など）に抵抗性でいずれの症例においても蛋白尿、腎機能の悪化を認めた。一方、肥満症例における FSGS の 10 例中 1 例を除いて、体重の減少とともに蛋白尿の改善を認め、腎機能の悪化も認めなかった。

D. 考察・結論

最近肥満関連腎症（Obesity Related Glomerulopathy）の報告が増えてきておりその中に FSGS 所見を伴うことが報告されている。今回の検討でも前回同様、腎予後に関して、肥満関連腎症は良好で FSGS を伴う肥満関連腎症、特発性 FSGS の順に腎予後が悪くなり、FSGS 所見を呈する腎障害においてそ

の発症機序が異なるものと推察される。今後も国立病院機構の腎ネットワークを活用し FSGS の実態を明らかにし、わが国における FSGS の病理組織、臨床経過を継続してデータ収集し、FSGS の病態、発症予防、進展抑制、適切な治療選択につながるデータベースを作り上げていくことが重要である。それに基づき今後 FSGS の適切な治療選択、臨床指針を作り上げることが可能となる。

E. 健康危険情報

肥満は生活習慣病のリスクファクターであるが、蛋白尿を来し、FSGS なる糸球体病変を伴うかのうせいがある。肥満に伴う蛋白尿は肥満の是正により軽快することが示唆され、腎障害の観点からも肥満のコントロールは重要である。

H. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表
 - 1) 八幡兼成、菅原照他：網膜症を認めない 2 型糖尿病症例の腎病変に関する臨床的及び組織学的検討。第 38 回日本糖尿病学会近畿地方会ミニワークショップ，2001
 - 2) 菅原照：肥満関連腎症。第 33 回日本腎臓学会西部学術大会ケーススタディ「腎疾患」，2003

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「近位尿細管受容体メガリンの細胞内アダプター蛋白の検索」

研究協力者 永井 雅昭
国立病院機構千葉東病院内科医長

研究要旨

近位尿細管管腔側に発現するエンドサイトーシス受容体メガリンは、AGEの取り込みを担っている事が報告されている。このため糖尿病性腎症の進展におけるメガリンの役割が注目されている。我々はメガリンの細胞内結合蛋白を検索しそのひとつとして、ARHを同定し、その機能としてメガリンのエンドサイトーシスを促進する事を明らかにした。

A. 研究目的

メガリンは LDL 受容体ファミリーに属するエンドサイトーシス受容体である。そのリガンドは多種多様であり、特に腎臓の近位尿細管におけるメガリンの機能は同所における蛋白の再吸収において欠く事のできないものである。我々はメガリンの cytoplasmic tail の結合蛋白を検索し、その機能を明らかにする事とした。

B. 研究方法

メガリン tail に結合する蛋白を同定するため yeast two-hybrid screening を施行する。得られた候補蛋白については GST-pull down assay、免疫沈降法によりその結合性を確認する。次に蛍光抗体法及び免疫電顕でその局在を明らかにする。続いて細胞に候補の蛋白を過剰発現させ、メガリンのエンドサ

イトーシスにおける影響を検索する。

C. 結果

yeast two-hybrid screening の結果 ARH をメガリンの細胞内結合蛋白のひとつとして同定した。ARH は phosphotyrosine binding domain を有する蛋白で、Autosomal recessive hypercholesterolemia の原因遺伝子として報告されたものである。ARH は LDL 受容体の FXNPXY motif に結合し、肝細胞において LDL の取り込みに必須である。メガリンは 2 つの FXNPXY motif を持ち、ARH はこのうち first FXNPXY motif にのみ結合する事が明らかとなった。MDCK 細胞に発現させた ARH はメガリンミニレセプターによるリガンドの取り込みを促進した。蛍光抗体法及び免疫電顕では、メガリンを高発現する L2 細胞において、

ARH は clathrin coated pits (CCPs), early endosome 及び tubulo-vesicular recycling endosome に存在した。一方近位尿細管においては、ARH は主に recycling endosome に相当すると考えられている dense apical tubule にメガリンとともに存在する事が明らかとなった。メガリンのエンドサイトーシスの過程において、ARH とメガリンは最初 CCPs に、次いで early endosome、dense tubular recycling endosome に認められ、最終的には細胞表面に回帰した。

D. 考察

メガリンは AGE の近位尿細管での取り込みを担っている事が報告されており、ARH の糖尿病性腎症進展における役割の解明が期待されている。今回 ARH がメガリンのエンドサイトーシスを促進する事が明らかとなり、ARH の遺伝子導入によりメガリンのリガンドである AGE や $\beta 2$ ミクログロブリンの近位尿細管での処理を加速する事も考えられ、今後の臨床応用にもつながるものと考えられる。

E. 結論

アダプター蛋白 ARH はメガリンの細胞内 1st NPXY motif に結合しそのエンドサイトーシスを促進する。

H. 研究発表

1. 論文発表

Nagai M. et al., The Adaptor Protein ARH Escorts Megalin to and through Endosomes. Mol Biol Cell, 14, 4984-4996, 2003

2. 学会発表

1) Nagai M. et al. The Adaptor Protein ARH Escorts Megalin through Recycling Dense Apical Tubules of the Proximal Cells. ASN 2003

2) 永井雅昭 他、メガリンのエンドサイトーシスにおけるアダプター蛋白 ARH の役割、日本腎臓学会、2004

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「全国規模で構築されたデータベース解析による糖尿病性腎症進展抑制と
治療指針作成のための研究
－治療薬効果を最大限に引き出すための家庭血圧管理法と患者指導法の確立－」

研究協力者 西村 元伸
国立病院機構千葉東病院 部長

共同研究者

国立病院機構千葉東病院	科長	酒卷	建夫
国立病院機構名古屋医療センター	医長	加藤	泰久
国立病院機構大阪医療センター	部長	東堂	龍平
国立病院機構熊本医療センター	部長	東	輝一朗
国立病院機構九州医療センター	医長	吉住	秀之
国立病院機構兵庫中央病院	医長	冨永	洋一
国立病院機構西札幌病院	医長	加藤	雅彦
国立病院機構仙台医療センター	部長	清野	仁
国立病院機構金沢医療センター	部長	能登	裕
国立病院機構千葉医療センター	医長	島田	典生
国立病院機構大阪南医療センター	医長	大星	隆司
国立病院機構岡山医療センター	医長	肥田	和之
国立病院機構岩国医療センター	医長	山崎	弘子
国立病院機構岩国医療センター	医長	城戸	雄一
国立病院機構東徳島病院	医長	長瀬	教夫
国立病院機構長崎医療センター	医長	古巢	朗
国立病院機構大分医療センター	医長	酒卷	宏行
国立病院機構千葉東病院	室長	宮内	真弓
国立病院機構千葉医療センター	室長	坪井	康人
国立病院機構千葉東病院	部長	山田	研一

研究要旨

【目的】candesartan の糖尿病性腎症への効果に影響する因子を尿アルブミン排泄率(AER), 尿 IV 型コラーゲン(IV-C)を指標に多施設共同前向き研究にて検討した。【方法】糖尿病早期腎症期の軽症高血圧を呈する 2 型 DM を対象にcandesartan を 18 ヶ月間投与し有効群、無効群の比較をした。【結果】1 年以上観察した 15 人を解析。AER, IV-C が観察期に比し低下した者を「有効」, 上昇した者を「無効」とし、2 群間の HbA1c, 血圧, BMI, 血漿 adiponectin, 食生活を比較。AER は有効 6 人, 無効 9 人, IV-C は有効 8 人, 無効 5 人。AER は、有意差を認める項目はなかったが、血圧、特に家庭血圧が有効群で低値の傾向を示した。IV-C は 2 群で BMI と adiponectin に有意差を認めた。HbA1c は AER, IV-C とも有効群で低値傾向であったが有意ではなかった。【結論】candesartan の有効性に影響する因子は指標により異なる。AER については血圧が、IV-C に対しては脂肪組織由来の物質がより影響を持つ可能性が示唆された。今後、観察期間をのばして、end point を顕性腎症または腎不全発症にし、最終的な効果を見極めた上で、薬剤の有効性に影響する因子を検討する必要があると思われる。

A. 研究目的

腎透析患者は糖尿病性腎不全患者の著増により約 20 万人に達し、年間国民総医療費の約 3%強も消費している。この難治性腎疾患の腎不全・腎死への進展を 1 年でも遅らせることは急務の事柄である。糖尿病患者の中でも微量アルブミン尿を呈する早期腎症期の患者は顕性腎症への進展の危険が高く、血糖、血圧、生活習慣など多面的、かつ厳格な管理が要求される。しかし全ての管理目標達成は容易でなく、患者個人の特性を生かした診療指針、すなわちテーラーメイド医療の確立が必要である。本研究では、糖尿病性腎症に有用であるアンギオテンシン II 受容体拮抗剤(ARB)を糖尿病早期腎症患者に投与し、その有効性に対

する (1)環境因子、(2)遺伝因子、(3)腎障害様式の影響を検討する。更に、腎症進展に対する家庭血圧の影響を検討する。以上の検討により、ARB の効果を最大限に引き出すためのテーラーメイド医療確立を目指す。更に腎症進展阻止効果をもとにした、家庭血圧管理目標を検討し、より適切な血圧管理法の確立をも目指す

B. 研究方法

本研究の研究概要を図 1 に示す。
【登録基準】(1)罹病期間 5 年以上又は網膜症(+)の 70 歳以下の 2 型糖尿病、(2)糖尿病早期腎症 (夜間蓄尿で、 $20 \leq$ 尿中アルブミン排泄率(AER) $\leq 200 \mu\text{g}/\text{min}$ 、 $\text{Ccr} \geq 60\text{ml}/\text{min}/1.48\text{m}^2$)、(3)観察期外来または家庭血圧が

140/90mmHg 未満の軽症高血圧（但し ACE-I、ARB 以外の降圧剤の併用は可）、(4) 観察期 HbA1c \leq 9.0%。【プロトコール】多施設共同前向き試験で行う。2 ヶ月間の観察期の後、candesartan 4mg/日投与開始。1 ヶ月後、副作用、過降圧がないことを確認し 8mg/日に増量して、18 ヶ月目まで経過を追跡。1, 3, 6, 12, 18 ヶ月目に夜間蓄尿、採血、家庭血圧測定を行う。家庭血圧は IC チップ内臓の家庭血圧計で各観察期に 7 日間、朝起床時と夜就寝時に測定。朝 BP、夜 BP、全 BP（朝夜血圧の平均）として解析した。candesartan による腎症進展阻止効果に影響する要因を、環境因子、遺伝因子、腎障害様式の点から解析する。環境因子としては、糖・脂質代謝、肥満度、血圧管理状況、食事・運動習慣の影響を検討する。特に血圧に関しては、家庭血圧も測定し、腎症進展阻止効果に対する外来随時血圧と家庭血圧の影響を比較する。遺伝因子として、種々の遺伝子多型の Candesartan 効果への影響を検討。腎障害様式として、細胞外器質蓄積量を反映しうる尿中 IV 型コラーゲン排泄率 (IV-C)、腎エコーで測定した腎サイズ (RAI: Renal Area Index) の影響を検討する。

（研究の倫理面への配慮）

文書による説明と同意を行う。説明文書は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）」に基づき作成した。本プロトコールは遺伝子解析を含め、既に参加施設の倫理委員会で承認を受けている。

C. 結果

最終的には 25 人が登録された。今回は 1 年以上経過した 15 人のデータをもとに解析した。解析対象患者背景を表 1 に示す。各症例の AER の経過を図 2 に、IV-C の経過を図 3 に示す。両者とも有効、無効混在しており、残念ながら、どちらを指標にしても、paired t-test で candesartan の有意な効果を確認できなかった。表 2 に、効果の分布を示す。それぞれ、観察期に対して減少したものを有効、増加したものを無効とした。AER を指標とすると、有効者 6 人、無効 9 人、IV-C を指標にすると、有効 9 人、無効 6 人となりました。15 人中 5 人は、AER、IV-C を指標とした効果に食い違いを示した。

Candesartan の血圧に対する効果を図 4 に示す。血圧は、収縮期、拡張期および平均血圧で解析したが、全て同じ傾向であったので以下平均血圧 (mBP) の結果のみ示す。外来、家庭朝、夜、全血圧とも低下したが、家庭夜血圧で最も強く降圧効果を示し、有意差を認めた ($p < 0.05$)。

図 5 に AER を指標とした、有効群、無効群の比較を示す。まず、血糖、肥満因子に関しては、HbA1c は有効群で低値の傾向を示したが、有意差は認めなかった。BMI、adiponectin も 2 群間に有意差を認めなかった。次に、血圧に関しては、外来、家庭朝、夜、全血圧とも有効群で低値の傾向を示したが、有意差を認めなかった。これらの中で、家庭朝血圧が最も大きな差を認

めた。次に摂食状況に関しては、摂取カロリー、塩分、蛋白摂取量とも2群間で有意差を認めなかった。

図6に、IV-Cを指標にした、candesartanの有効群、無効群の比較を示す。HbA1cは有効群で低値の傾向を示したが、有意差は認めなかった。一方、BMIは有効群で無効群に比し有意に低値($p < 0.05$)であった。更に、adiponectinも、有効群で有意に低値であり($p < 0.05$)、肥満が悪影響を及ぼしていることが示唆された。血压に関しては、外来、家庭血压とも、2群間で有意差は認めなかった。摂食状況に関しては、蛋白摂取量が有効群で有意に多かった($p < 0.01$)。

D. 考察

(1)今回の15人の検討では、AER、IV-Cのどちらを指標にしても、candesartanの有意な降圧効果は認められなかった。(2)IV-Cを指標にすると、candesartanの効果には、肥満関連因子が有意に影響した。(3)AERを指標とすると、candesartanの効果に影響する有意な因子はなかったが、血压、特に家庭朝血压が影響する傾向が認められた。

以上、candesartanのIV-C、AERへの効果には異なる因子が関与している可能性が示唆された。但し、AER、IV-Cを指標とした有効性が食い違う症例が15例中5例存在した。従って、観察期間をのばして最終的な効果を見極めた上で、薬剤の有効性に影響する因子を検討する必要があると思わ

れた。

E. 結論

Candesartanの糖尿病性腎症に対する効果は、指標により有効性に関与する因子が異なる可能性がある。観察期間をのばして、end pointを顕性腎症または腎不全発症にし、最終的な効果を見極めた上で、薬剤の有効性に影響する因子を検討する必要があると思われる。

F. 健康危険情報

Candesartanによると思われる副作用(下痢)でdrop outした者が1名いた。

G. 知的所有権の出現登録状況

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Okonogi H, Nishimura M, Utsunomiya Y, Hamaguchi K, Tsuchida H, Miura Y, Suzuki S, Kawamura T, Hosoya T, Yamada K. Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Nephrol*, 55(5), 357-364, 2001

2) Nishimura M, Sasaki T, Ohishi A, Oishi M, Kono S, Totani Y, Kato Y, Noto Y, Misaki S, Higashi H, Shimada F, Wakasugi H, Inoue K, Hoshiyama Y, Yamada K. Angiotensin converting enzyme inhibitor and probucol suppress time-dependent increase in urinary

type IV collagen excretion of type 2 diabetes mellitus patients with early diabetic nephropathy. *Clinical Nephrol*, 56(2): 96-103, 2001

3) Nishimura M, Terawaki H, Hoshiyama Y, Joh K, Hamaguchi K, Yamada K. Renal ultrasonography is useful for evaluating diabetic renal failure. *Clin Nephrol* 59: 174-179, 2003

2. 学会発表

1) 西村元伸、小出信澄、山田研一、千葉県 DM 腎症 study group、国立病院機構 DM 腎症 study group。糖尿病性腎症における家庭血圧の測定意義と、candesartan (CA) の降圧効果に対する遺伝因子の影響に関する研究。日本糖尿病学会、2004 年

2) 西村元伸、酒巻建夫、加藤泰久、東堂龍平、東輝一朗、吉住秀之、富永洋一、加藤雅彦、清野仁、能登裕、島田典生、大星隆司、肥田和之、山崎弘子、城戸雄一、長瀬教夫、古巢朗、酒巻宏行、小出信澄、宮内真弓、坪井康人、山田研一。糖尿病性早期腎症に対する candesartan (CA) の効果に影響する因子の検討。日本糖尿病性腎症研究会、2004 年

図 1 : 研究概要

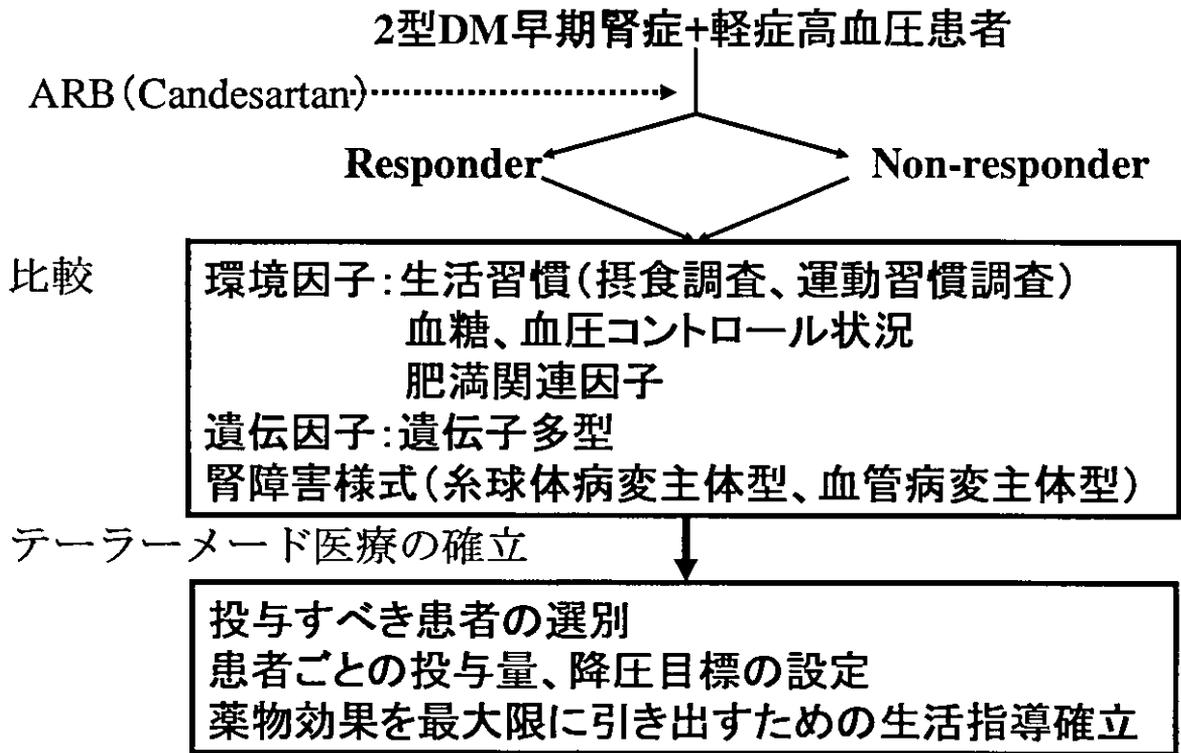


表 1 : 解析対象患者背景

性	男12人、女3人	
年齢	48.3 ± 11.3	才
罹病期間	14.1 ± 8.1	年
BMI	23.91 ± 3.42	kg/m ²
AER	74.7 ± 40.7	μg/min
IV型Coll	5.78 ± 3.94	ng/g cre
Ccr	91.7 ± 23.0	ml/min
外来血圧	137 / 78	mmHg
家庭朝	136 / 76	mmHg
家庭夜	134 / 72	mmHg
家庭全	135 / 74	mmHg

図 2 : 尿中アルブミン排泄率経過

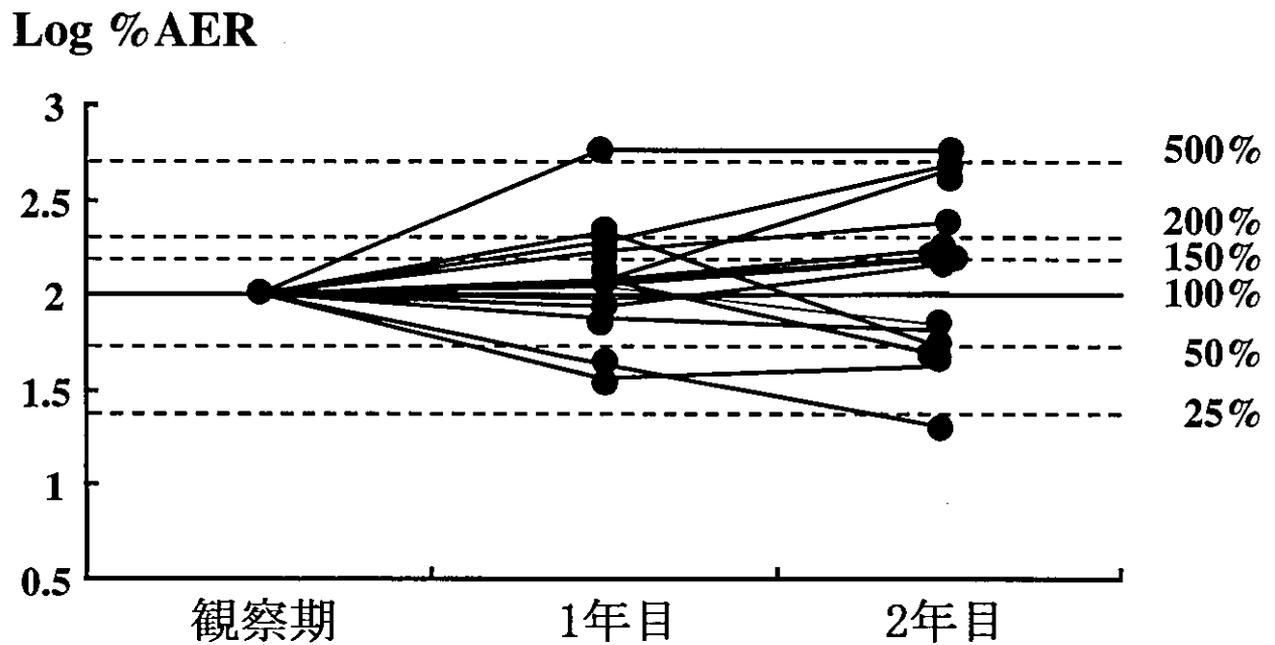


図 3 : 尿中IV型コラーゲン経過

